



Title	三叉神経尾側垂核のイソレクチンB4（IB4）結合性ニューロンの選択的削除がラット上口唇のホルマリン誘導侵害受容行動、c-Fos発現に及ぼす効果およびGABAA受容体作動性薬物の影響
Author(s)	大山口, 藍子
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58458
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

RPAP3、PIH1D1 の発現が腫瘍における治療のターゲット分子の一つとなる可能性が示唆された。

よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。

【31】

氏 名	おおやま ぐち あい こ 大 山 口 藍 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 4 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	三叉神経尾側亜核のイソレクチンB4(IB4)結合性ニューロンの選択的削除 がラット上口唇のホルマリン誘導侵害受容行動、c-Fos発現に及ぼす効果 およびGABA _A 受容体作動性薬物の影響
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 丹 羽 均 (副査) 教 授 上 崎 善 規 准教授 竹村 元秀 講 師 谷 川 千 尋

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

三叉神経尾側亜核 (Vc) へ投射する C 線維には、神経成長因子 (NGF) に依存性のペプチド性線維と、グリア由来神経活性因子 (GDNF) 依存性の非ペプチド性線維がある。非ペプチド性線維はイソレクチン B4 (IB4) 結合性 C 線維であり、その機能はまだよく知られていない。リボソーム不活性化タンパクであるサポリンを大槽 (小脳延髄槽) に投与すると、Vc 領域の標的細胞を細胞死へ誘導できる。今回、IB4-サポリン (IB4-Sap) で前処置したラットを用い、IB4 結合性 (IB4⁺) ニューロンがいかに疼痛発現制御に関与するかを、口唇にホルマリンを注射して誘導される疼痛関連行動 (PRB; 顔面こすり行動) および Vc での c-Fos 発現から検討した。また GABA は主要な抑制性伝達物質で疼痛制御に関与しているが、IB4⁺ニューロンとの関係は不明である。GABA_A受容体作動性薬物を全身前投与し、これらに対する影響を調べた。

【実験方法】

SD 系雄性ラット (体重約 150g; ケアリー) を 54 匹用いた。

IB4⁺ニューロン削除動物の作製:

Na-ベントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg, i.p.) で、動物を脳定位固定装置 (Narishige) に固定後、後環椎後頭膜を露出し、小さな穴を開け、IB4-Sap (3 μM; 18 匹)、コントロールとして生理食塩水 (Sal; 18 匹) 又は非結合サポリン (Bl-Sap, 3 μM; 18 匹) を各 5 μl ずつ、マイクロシリンジで大槽に注入した。注入後創面を閉じ、麻酔から回復させ、術後 2~4 週間経過したものを実験に使用した。

ホルマリンテスト:

1.85%ホルムアルデヒド生理食塩水溶液 50μl をラットの左側上口唇に皮下注射し、5 分毎の PRB を 45 分間にわたり計数した。さらに GABA_A受容体アンタゴニストのピククリン溶液 (2 mg/kg)、GABA_A受容体アゴニストのムシモル溶液 (1mg/kg) をホルマリンテストの 10 分前に腹腔内投与し、PRB を計数した。

免疫組織化学染色:

ホルマリン注射 2 時間後に灌流固定を行い、延髄および三叉神経節をそれぞれの凍結連続横断および水平断切片を作製し、両切片の IB4⁺を組織化学染色し、延髄は c-Fos を免疫組織化学法によりそれぞれ DAB 染色した。Vc の c-Fos 免疫陽性 (c-Fos-IR) 細胞を数え、標識細胞の多い代表切片 5 枚の平均値を計算した。また IB4⁺ニューロンの三叉神経節における IB4⁺神経細胞体数を数えた。有意差検定には、分散分析 Fisher's PLSD を用い、*P*<0.05 を有意とした。

【結果】

IB4⁺ニューロン:

IB4-Sap 前処置ラットでは、Sal および Bl-Sap 前処置ラットに比べ、Vc の II 層における IB4⁺は減少し、また三叉神経節における IB4⁺ニューロンの細胞体数 (81.8±8.3) は Sal および Bl-Sap (309.3±20.5, 330.7±18.8) と比べ有意に減少した。

ホルマリンテスト:

Sal および Bl-Sap 前処置ラットではホルマリン注射後に 0~15 min (第 1 相) は 26.5±5.7 及び 26.1±6.1、15~30min (第 2 相) では 44.1±6.6 および 38.4±7.2、30~45min (第 3 相) で 22.5±9.0 および 18.3±4.9 の PRB を認め、コントロール群間に差はなかった。IB4-Sap 前処置ラットでは第 2 相の PRB (95.8±13.0) が、Sal および Bl-Sap 前処置ラットに比べ有意に増加した。ピククリンを全身前投与すると、Sal、Bl-Sap および IB4-Sap 処置ラットの PRB は Sal を全身前投与した場合と比べ、いずれの相も減少したが、第 2 相は特に有意に減少した。ムシモルを全身前投与すると、Sal および Bl-Sap 処置ラットの PRB は Sal の全身前投与と比べ、いずれの相も増加したが、特に第 2 相は有意に増加した。ムシモル全身前投与の IB4-Sap 前処置ラットの PRB はいずれの相も PRB 数は有意に減

少しした。

c-Fos-IR 細胞 :

Vc の c-Fos-IR 細胞数は Sal および Bl-Sap 前処置ラットでは、浅層部 (Vc I / II) 136.3 ± 15.3 および 137.3 ± 12.0 、大細胞部 (Vc III / IV) で 52.0 ± 16.6 および 46.3 ± 12.2 で、コントロール群間に差は認めなかった。IB4-Sap 前処置ラットの c-Fos-IR 細胞数は Vc I / II で 258.8 ± 13.2 、Vc III / IV で 101.7 ± 17.6 であり Sal および Bl-Sap 前処置ラットに比べそれぞれ有意に増加した。ピククリンの全身前投与により Vc I / II に認められる c-Fos-IR 細胞数は、Sal、Bl-Sap および IB4-Sap 前処置ラットにおいて、Sal 全身前投与した場合に比べ、それぞれ有意に減少した。ムシモルの全身前投与すると、Bl-Sap 処置ラットでは Vc I / II に認められる c-Fos-IR 細胞数は有意に増加した。一方 IB4-Sap 前処置ラットでは Vc I / II、Vc III / IV において Sal 全身前投与に比べ有意に減少した。

【結論】

本研究から Vc I / II の IB4⁺ニューロンの入力は、ホルマリン誘導 PRB および Vc ニューロンの活動性において、抗侵害受容性制御 GABA_A受容体を介して関与すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は isolectin B4 結合能陽性 (IB4⁺) C 線維の選択的削除が、上口唇へのホルマリン注射誘導疼痛関連行動 (PRB; 顔面こすり行動) と三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) の c-Fos 発現に及ぼす効果および GABA_A受容体作動性薬物の腹腔内前投与に対する効果を検討した。

その結果、IB4⁺ニューロンを削除すると、ホルマリン誘導 PRB と c-Fos 陽性細胞の数が増加した。また、ピククリンを前投与すると、ホルマリン誘導 PRB と c-Fos 陽性細胞の数が増加した。ムシモルを前投与すると、IB4⁺ニューロンを削除していないものではホルマリン誘導 PRB と c-Fos 陽性細胞数は増加し、一方、IB4⁺ニューロンを削除したものでは減少した。

以上より、IB4⁺C 線維が Vc において GABA_A受容体を介した侵害受容の制御を担っていることが示された。

よって、博士 (歯学) の学位に値するものと認める。